

**INFLAMMATION PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC AGENT COMPRISING
POLYPEPTIDE BELONGING TO THIOREDOXIN FAMILY**

特許公報番号 JP2002179588
公報発行日 2002-06-26
発明者: YODOI JIYUNJI; NAKAMURA HAJIME; HOSHINO
TOMOAKI
出願人 YODOI JIYUNJI
分類:
一国際: **A61K38/00; A61P11/00; A61P13/12; A61P19/06;
A61P29/00; A61P43/00; A61K38/00; A61P11/00;
A61P13/00; A61P19/00; A61P29/00; A61P43/00; (IPC1-7):
A61K38/00; A61P11/00; A61P13/12; A61P19/06;
A61P29/00; A61P43/00**
一欧州:
出願番号 JP20000321457 20001020
優先権主張番号: JP20000321457 20001020; JP20000306214 20001005

ここにデータエラーを報告してください

要約 JP2002179588

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a new substance effective for preventing or treating various inflammatory diseases derived from leukemic infiltration. **SOLUTION:** The objective agent for preventing or treating inflammatory diseases derived from leukemic infiltration comprises a polypeptide belonging to the thioredoxin family (polypeptide belonging to the TRX family).

esp@cenet データベースから供給されたデータ - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-179588

(P2002-179588A)

(43) 公開日 平成14年6月28日 (2002.6.28)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 38/00		A 6 1 P 11/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 11/00		13/12	
13/12		19/06	
19/06		29/00	
29/00			
I O I			
審査請求 未請求 請求項の数 4 O L (全 11 頁) 最終頁に続く			
(21) 出願番号	特願2000-321457(P2000-321457)	(71) 出願人	591253227
		淀井 淳司	
(22) 出願日	平成12年10月20日 (2000.10.20)		京都府京都市左京区北白川西瀬ノ内町39
		(72) 発明者	淀井 淳司
(31) 優先権主張番号	特願2000-306214(P2000-306214)		京都府京都市左京区北白川西瀬ノ内町39
(32) 優先日	平成12年10月5日 (2000.10.5)	(72) 発明者	中村 肇
(33) 優先権主張国	日本 (J P)		大阪府枚方市植葉並木2-6-3
特許法第30条第1項適用申請有り 平成12年9月26日		(72) 発明者	星野 友昭
日本免疫学会発行の「日本免疫学会総会・学術集会記録			福岡県筑紫野市美しが丘南1-8-7
第30巻」に発表		(74) 代理人	160065215
		弁理士 三枝 英二 (外8名)	
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 チオレドキシンファミリーに属するポリペプチド類を含む炎症予防乃至治療剤

(57) 【要約】

【目的】 白血球浸潤に由来する種々の炎症疾患の予防乃至治療に有効な新規な物質を提供することにある。

【解決手段】 チオレドキシンファミリーに属するポリペプチド類 (TRXファミリーに属するポリペプチド) を含む白血球の浸潤に由来する炎症疾患予防乃至治療剤を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 チオレドキシンファミリーに属するポリペプチド類 (TRXファミリーに属するポリペプチド) を含む白血球の浸潤に由来する炎症疾患予防乃至治療剤。

【請求項2】 炎症疾患が、間質性肺炎、肺線維症、成人呼吸窮迫症候群 (ARDS)、リウマチ、痛風、虚血再灌流障害又は糸球体腎炎である。請求項1に記載の予防乃至治療剤。

【請求項3】 チオレドキシンファミリーに属するポリペプチド類 (TRXファミリーに属するポリペプチド) を含む間質性肺炎の予防乃至治療剤。

【請求項4】 TRXファミリーに属するポリペプチドがチオレドキシンである請求項1～3のいずれかに記載の予防乃至治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、TRXファミリーに属するポリペプチドを含む炎症疾患の予防乃至治療剤に関する。

【0002】

【従来の技術】 チオレドキシン (TRX) は、高く保存された活性部位 (—Cys—Gly—Pro—Cys—) においてジチオール/ジスルフィドの酸化還元活性を有する分子量約12 kDの偏在するタンパク質である。TRXは、大腸菌においてリボヌクレオチドレダクターゼの電子供与体として同定され、原核生物及び真核生物においてチオレドキシンレダクターゼ及びNADPHと共により、蛋白質のジスルフィド還元を触媒することが知られている。

【0003】 ヒトTRXは、ヒトTリンパ球性ウイルス1型 (HTLV-1) —形質転換T細胞から、産生されるヒト成人T細胞白血病由来因子 (HTADF) としてクローニングされている。TRXはウイルス感染を含む種々のストレスによって誘導され、細胞から分泌されることが知られている。外因性のTRXは、過酸化水素によって誘導される細胞障害性及び再灌流障害を抑制することが知られている。

【0004】 β -アークチンプロモーターによってヒトTRXを全身的に過剰発現するTRX—トランスジェニックマウスは、限局性大脳虚血、放射線、膀胱癌、ラコト障害に、より抵抗性がある。更に、最近の研究によって、TRXが好中球、単球及びリンパ球に対して走化性効果があることが知られている。

【0005】 急性間質性肺炎は、3ヶ月後には>70%の死亡率という重篤な予後を示す。その多くは原因不明 (特発性) であるが、その他放射線、抗癌剤、ショック、敗血症などによって発症する。多くのメディエーター (例えば、サイトカイン類、ケモカイン類、遊走阻止因子 (MIF)、酸素ラジカル) が、急性間質性肺炎の原

因に含まれると考えられている。確かに、高サイトカイン血症 (hypercytopenemia) は、しばしば多臓器障害 (MOF) において、系統的炎症応答症候群 (SIRS, systemic inflammatory response syndrome) 及び/又は成人呼吸窮迫症候群 (ARDS) と共に臨床的に観察される。IL-1、IFN- γ 、TNF- α などの炎症誘発性のサイトカイン及びIL-8等のケモカインは、これら致命的な臓器不全のメディエーターとして考えられている。

【0006】 IL-18は、最も新しい炎症誘発性のサイトカインであり、毒素ショックのアクネ菌 (*Propionibacterium acnes*)—誘導性のモデルにおいて、IFN- γ 誘導因子 (IGIF) として発見された。IL-18は、IL-12、IL-2等の共同刺激シグナル及び抗原が添加されると、Tヘルパー1 (Th1) クローンや細胞株やNK細胞中で相対的にIFN- γ 及び顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) 産生を誘導する。本発明者や他のグループは、IL-18が潜在的にTh2サイトカイン (IL-4、IL-10、IL-13) 及びI κ B産生を誘導することができ、IL-18がTh1及びTh2細胞誘導においてコファクターとして作用することができることを示唆した報告がなされている。最近の研究では、IL-18は、IL-12、IL-2又はIL-15と相乗して臓器不全の病原性、致命的な敗血症において重大な役割を示すことが判ってきた。

【0007】 より、最近では、我々は、IL-18がIL-2と共に使用されたときに、急性間質性肺炎を誘導することを見出した。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、白血球浸潤に由来する炎症疾患の予防や治療に有効な新規な物質を提供することにある。

【0009】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、上記課題を解決すべく、鋭意研究を重ねた結果、TRXファミリーに属するポリペプチド、特に、チオレドキシンが、そのような炎症予防乃至治療効果があることを見出し、本発明を完成するに至った。即ち、本発明は、以下の発明を提供するものである。

【0010】 1. チオレドキシンファミリーに属するポリペプチド類 (TRXファミリーに属するポリペプチド) を含む白血球の浸潤に由来する炎症疾患予防乃至治療剤。

【0011】 2. 炎症疾患が、間質性肺炎、肺線維症、成人呼吸窮迫症候群 (ARDS)、リウマチ、痛風、虚血再灌流障害又は糸球体腎炎である。項1に記載の予防乃至治療剤。

【0012】 3. チオレドキシンファミリーに属するポリペプチド類 (TRXファミリーに属するポリペプチド) を含む間質性肺炎の予防乃至治療剤。

【0013】 4. TRXファミリーに属するポリペプチドがチオレドキシンである項1～3のいずれかに記載の

予防乃至治療剤。

【0014】

【発明の実施の形態】本発明において、「チオレドキシファミリー」とは、活性中心に配列-Cys-X-Y-Cys-(X及びYは同一又は異なって20種類のアミノ酸を示す。)を有し、チオレドキシスーパーファミリー(以下、「TRXファミリー」という)と呼ばれるものである。

【0015】このTRXファミリーに属するポリペプチドとしては、活性中心に配列-Cys-Gly-Pro-Cys-, Cys-Pr

α-Tyr-Cys-, Cys-Pro-His-Cys-, Cys-Pro-Pro-Cys-を有するポリペプチド類を例示することができ、これらの中でも、活性中心に配列-Cys-Gly-Pro-Cys-を有するポリペプチド類が好ましい。

【0016】具体的には、TRXファミリーに属するポリペプチドとしては、ヒト由来のチオレドキシ(ヒトADF)、大腸菌由来のチオレドキシ、酵母由来のチオレドキシ等のチオレドキシ；ヒトADF活性を有するポリペプチド(ヒトADFP)；ヒト、大腸菌等由来のグルタレドキシ等が含まれる。また、チオレドキシ活性を有するものであれば、全長を有する必要はなく、オリゴペプチドであってもよく、本発明のポリペプチドにはそのようなものも包含される。

【0017】TRXファミリーに属するポリペプチドは、細菌、植物及び動物由来のいずれであってもよい。また、TRXファミリーに属するポリペプチドは、天然物を精製する方法、遺伝子組換え法により、酵母、大腸菌等から得られるものであってもよく、TRX活性を有する限り、その1又は複数のアミノ酸を置換、付加、欠失等した誘導体であってもよい。また、化学合成によって製造してもよい。

【0018】このようなポリペプチドの製造方法の一例としては、例えば、下記のようなヒトADFPを得る方法が挙げられる。

【0019】(i) ヒト由来細胞株(例えばA17-2細胞等)を培養し、その培養液又は細胞抽出液から、塩析、グルタレドキシクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、クロマトフォークシング、逆相クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー等一般に用いられる手法により精製する方法(特開平1-85097号公報参照)。

【0020】(ii) 遺伝子組換え法により、ヒトADFPのcDNA又はゲノム遺伝子を、大腸菌、枯草菌、酵母、高等動物細胞、植物細胞などの宿主細胞に導入し、宿主細胞内で組み換えヒトADFPを発現させ、その後(i)に記したような手法を用いて精製する方法(特開平1-85097号公報参照)。

【0021】(iii) ペプチド化学合成法により、特開平5-13992号公報に開示された配列表の配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドを

合成する方法。

【0022】本発明における「炎症疾患」とは、主として白血球の浸潤による炎症疾患をいう。このような炎症疾患としては、サイトカイン-ケモカインによって誘導されるものを含む。ここで、サイトカインとは主に白血球を活性化する因子で、ケモカインは白血球を遊走させる因子である。炎症疾患では、サイトカインにより活性化された白血球がケモカインを産生してさらに白血球を遊走させ、炎症がおこる。このような炎症疾患としては、例えば、間質性肺炎、肺線維症、ARDS、リウマチ、痛風、虚血再灌流障害、糸球体腎炎等が挙げられる。虚血再灌流障害とは、各種臓器の一部又は全体が虚血に陥った後、血液によって再灌流される際に生じる組織の障害をいい、例えば、心筋梗塞、脳梗塞、肺梗塞等の疾患の治療時に生じる障害である。本発明においては、特に、肺梗塞、脳梗塞の治療時に有効である。

【0023】本発明においては、特に、チオレドキシ、好ましくはヒト由来のチオレドキシがよい。

【0024】又、本発明の予防乃至治療剤は、白血球の浸潤に由来する各種炎症疾患の予防又は治療に有効である。例えば、癌患者に抗腫瘍剤を投与していると、その副作用として、間質性肺炎を発症する場合があります。本発明の炎症疾患予防剤は、そのような発症を予防するのに非常に有効である。

【0025】本発明の炎症疾患予防乃至治療剤の投与単位形態としては、一般的には有効成分であるTRXファミリーに属するポリペプチドのみ又はそれと慣用の担体と共に、各種の形態が治療目的に応じて選択される。その代表的なものとしては、錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、坐剤、トローチ剤、硬膏剤等の固形製剤；液剤、懸濁剤、乳剤、注射剤(液剤、懸濁剤等)；シロップ剤、ローション剤等の液状製剤；軟膏剤等のクリーム状の製剤；貼布剤；エアゾール剤、アトマイザー、ネブライザー等の吸入剤；含嗽剤等が挙げられる。これらは、当該形態において通常用いられている方法により調製することができる。

【0026】本発明の予防乃至治療剤に利用される上記製剤学的に許容される担体としては、製剤の使用形態に応じて通常使用される、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、吸収促進剤、保湿剤、緩衝剤、滑沢剤、充填剤、増量剤、付着剤、防腐剤、安定剤、乳化剤、可溶性剤、浸透圧を調節する塩、緩衝剤等の希釈剤又は賦形剤を例示でき、これらは得られる製剤の使用単位形態に応じて適宜選択使用される。

【0027】更に、予防乃至治療剤中には、必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤等他の医薬品を含有させて、剤として調製することもできる。

【0028】上記予防乃至治療剤の投与方法は特に制限がなく、各種製剤形態、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度等に応じて決定される。例えば、錠剤、

丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、トローチ剤、液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤は経口投与され、注射剤は静脈内に、或いは筋肉内、皮内、皮下又は腹腔内に投与され、硬膏剤、軟膏剤、ローション剤、貼布剤は経皮投与され、坐剤は直腸内に投与される。また、吸入剤は、鼻腔又は口腔より鼻粘膜、口腔・上部消化管粘膜、気道上皮に投与される。含嗽剤は、口腔・上部消化管粘膜を通して投与される。

【0029】注射剤中のTRXファミリーに属するポリペプチド含量としては、例えば、0.0002〜0.2(w/v%)程度、好ましくは0.001〜0.1(w/v%)程度に調整される。また、これら液状製剤とした場合は凍結保存、又は凍結乾燥等により水分を除去して保存してもよい。凍結乾燥剤は、使用時に注射用蒸留水などを加え、再溶解して使用される。

【0030】本発明の予防乃至治療剤は、その製剤形態に応じた適当な投与経路により投与される。例えば、注射剤の形態にして静脈、動脈、皮下、筋肉内などに投与することができる。その投与量は、患者の症状、年齢、体重などにより適宜調整されるが、通常TRXファミリーに属するポリペプチドとして体重1kg当たり、0.005mg〜500mg、好ましくは0.1mg〜100mgであり、これを1日1回ないし数回に分けて投与するのが適当である。

【0031】また、ヒトADRFは、本発明者らによりインタロイキン2レセプターの発現を誘導する物質として発見され、ヒト成人型T白血病患者より樹立したT白血病細胞株の培養液上清中に存在することが見出され(特許第1845952号)、チオレドキシンの遺伝子配列は既に知られているため(特開昭64-85097号)、例えば、この遺伝子を各種動物、例えば、ブタ、ウシ、マウス、ラット、ハムスター、ニワトリ、イヌ等に組み込むことによって、間質性肺炎、肺線維症、ARDS、リウマチ、痛風、虚血再灌流障害又は糸球体腎炎等の炎症疾患に抵抗性のあるトランスジェニック動物を得ることができる。

【0032】更に、ヒトの場合には、遺伝子治療法によって、チオレドキシファミリーに属するポリペプチドをコードする遺伝子を細胞に組み込むことによって、間質性肺炎、肺線維症、ARDS、リウマチ、痛風、虚血再灌流障害又は糸球体腎炎等の炎症疾患を予防乃至治療することができる。

【0033】本発明のチオレドキシファミリーに属するポリペプチド類(TRXファミリーに属するポリペプチド)を含む炎症疾患予防乃至治療剤は、白血球の浸潤を抑制することができるので、間質性肺炎、肺線維症、ARDS、リウマチ、痛風、虚血再灌流障害又は糸球体腎炎等の炎症疾患に有効である。

【0034】
【実施例】以下、この発明の実施例を詳細に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

【0035】実施例1：リコンビナントTRXを用いた急性間質性肺炎の予防効果

リコンビナントのヒトTRX(ヒトrTRX)を、Mitsui, A., Hirakawa, T. & Yodoi, J. (1992) Biochem Biophys Res Commun 186, 1220-6.に記載の方法によって調製した。

【0036】本発明者らは、IL-18とIL-2をマウスの腹腔内に投与すると、肺の間質腔に白血球浸潤を伴った急性間質性肺炎を発症し、それによって死亡することを発見したので、このモデルを用いて、以下の試験を行った。

【0037】(1) 若年の(8週令の雌)C57BL/6(86)マウス(体重約20g)を2群(各群n=5)に分け、各々に0.2μgのIL-18及び5000IU.U.のIL-2を含む0.2mlのPBSを毎日腹腔内注射した。更に、一方の群には20μgのヒトrTRXを溶解した0.1mlのPBS(TRX投与群)を、他方の群にはコントロール群として、0.1mlのPBSのみ(コントロール群)を、1日おきに腹腔内注射した。

【0038】その結果、IL-18/IL-2投与後12日目には、TRX投与群では60%の生存率であったが、コントロール群においては、IL-18/IL-2投与後11日間にすべて死亡した。

【0039】(2) 次に、8週令の雌のC57BL/6マウス(体重約20g)を2群(各群n=10)に分け、各々に0.2μgのIL-18及び5000IU.U.のIL-2を含む0.2mlのPBSを毎日腹腔内注射(ip)した。更に、一方の群には20μgのヒトrTRXを溶解した0.1mlのPBS(TRX投与群)を、他方の群にはコントロール群としてOVAを用い「OVA投与群」として、20μgのOVAを溶解した0.1mlのPBSを、1日おきに腹腔内注射(ip)した。

【0040】その結果、投与開始後20日目には、TRX投与群では80%の生存率であったが、OVA投与群では90%のマウスが死亡した。Kaplan-Meier(Log-Rank)及びWilcoxon分析によれば、TRX投与群はOVA投与群に比して有意な生存率を示した(それぞれp=0.0059, p=0.0226)(図1)。

【0041】更に、20日目まで生存していたTRX投与群(TRX day 20)及び19日目に死亡したOVA投与群(OVA day 19)の各マウスの肺の組織を、光学顕微鏡で観察した。その結果を図2に示す。図2から明らかなように、TRX投与群においては、白血球の浸潤や浮腫も抑制され、更に肺胞性の空洞の大幅な分散が見られたのに対し、OVA投与群では、肺間質への著明な白血球浸潤と間質の浮腫・肥厚・破壊が観察され、間質性肺炎の病巣が見られた。

【0042】(3) 更に、8週令の雌のC57BL/6マウス(体重約20g)を3群(各群n=5)に分け、1日おきにPBSを0.1mlのみ腹腔内注射したマウス(n=5)(コントロール群)、上記(2)と同様な処置をしたマウス(TRX投与群及びOVA投与群(0.2μgのIL-18及び5000IU.U.のI

L-2を含む0.2mlのPBSを毎日腹腔内注射し、TRX投与群には20μgのヒトrTRXを溶解した0.1mlのPBSを、OVA投与群には20μgのOVAを溶解した0.1mlのPBSを、1日おきに腹腔内注射し、28日後のマウスの肺及び心臓の重量を測定した。但し、OVA投与群については、死亡したマウスの *

* 肺及び心臓の重量を測定したが、他の群については、28日後に殺し、その肺及び心臓の重量を測定した。結果を表1に示す。

【0043】

【表1】

	コントロール群	OVA 投与群	TRX 投与群
肺の湿重量 (mg)	160 ± 24	230 ± 46	147 ± 16
心臓の湿重量 (mg)	100 ± 28	126 ± 38	94 ± 13

【0044】TRX投与群において肺の湿重量がOVA投与群に比して有意に減少した ($p=0.007$)。

【0045】実施例2 TRXトランスジェニックマウスを用いた間質性肺炎の予防効果

ヒトチオレドキシン遺伝子を導入され、ヒトチオレドキシンを全身に過剰発現するマウスであるヒトTRXトランスジェニックマウスを、特開平5-330839号に従って作製し、実施例1と同様な実験を行った。該マウスは、刺激により血中にヒトチオレドキシンが放出され、チオレドキシンを点滴静脈内投与するようなモデルとなるものである。

【0046】即ち、8週令の雄のヒトTRXトランスジェニックマウス ($n=8$) (体重約20g) と8週令の雄のCS7BL/6マウス (体重約20g) ($n=10$) を用い、各々に0.2μgのIL-18及び50000IUのIL-2を含む0.2mlのPBSを毎日腹腔内注射 (i.p.) した。

【0047】その結果を図3に示す。TRXトランスジェニックマウス (TRX TG) においては、CS7BL/6マウスに比して26日後有意に生存した (Kaplan-Meier (Log-Rank): $p=0.0391$ 及び Wilcoxon: $p=0.0774$)。

【0048】更に、28日後に犠牲にしたTRXトランスジェニックマウス (TRX TG Day 26 Sacrificed) 及び8日後に死亡したCS7BL/6マウス (CS7BL/6 Day 8 dead) の肺及び他の器官の組織を、光学顕微鏡で観察した。その結果を図4 (図4は肺の結果を示す) に示す。TRXトランスジェニックマウスにおいては、ほとんど病理学的に変化が見られなかったのに対し、CS7BL/6マウスでは、肺に白血球の浸潤と共に、間質の浮腫、肥厚及び破壊が観察され、間質性肺炎の病巣が見られた。

【0049】実施例3 マウスエアバウチモデル (Mouse Air Pouch Model) を用いたTRXの白血球浸潤抑制

マウスエアバウチモデル (Mouse Air Pouch Model) を用いて、TRXの白血球浸潤抑制を調べた。

【0050】即ち、8週令の雄のCS7BL/6 (B6) マウス (体重約20g) の背中の皮下に注射器を用いて4mlの空気を注射し、該マウスの背中にエアバウチを作製した。

【0051】3匹の各マウスのエアバウチ中に、各々下記の溶液を注射した。

①生理食塩水を1ml

②1μg/mlのLPSを含む生理食塩水を1ml

③1μg/mlのLPSを含む生理食塩水を1ml
但し、③の場合のみ、エアバウチにLPSを注射する直前に、40μgのTRXを400μg/ml (生理食塩水に溶解) の濃度で0.1ml屠静脈より静注 (iv) した。

【0052】その後、エアバウチから、注射器を用いて、細胞を取り出し、フローサイトメーターを用いて観察した。その結果を図5に示す。

【0053】図5より、LPSを注入すると、白血球の浸潤が見られるが、TRXを投与することによって、その白血球の浸潤が抑制されるのが判った。

【0054】上記のマウスエアバウチモデルは、例えば、痛風 (尿酸結晶) 関節炎の治療モデルとしても使用されるものであり (Kerkel et al., Baird S, Sears P, Santiago R, Boisvert W. The murine homolog of the interleukin-8 receptor CXCR-2 is essential for the occurrence of neutrophilic inflammation in the air pouch model of acute urate crystal-induced gouty synovitis. Arthritis Rheum. 1998 May; 41(5):900-9.). 他の白血球の浸潤に由来する各種炎症疾患、例えば、肺線維症、ARDS、リウマチ、虚血性脳虚脱等又は糸球体腎炎においてもモデルとして使用されるものである。このような疾患の予防乃至治療に本発明の剤が有効であることは明らかである。

【0055】実施例4 肺局所におけるTRXのサイトカインの発現抑制

8週令の雌のCS7BL/6マウス (体重約20g) を5群 (各群 $n=10$) にわけ、

①PBSを3日連続0.2mlのみ腹腔内注射したマウス (コントロール群)、

②IL-2 (50000 IU) を含む0.2mlのPBSを3日連続腹腔内注射したマウス (IL-2群)、

③IL-18 (1μg) を含む0.2mlのPBSを3日連続腹腔内注射したマウス (IL-18群)、

④IL-2 (50000 IU) とIL-18 (1μg) を含む0.2mlのPBSを3日連続腹腔内注射したマウス (IL-2/IL-18群)、

⑤更に40μgのヒトrTRXを溶解した0.1mlのPBSを1、3日目に前投与しIL-2/IL-18群と同様の処置をしたマウス (TRX群)

の肺局所のサイトカインを、Neteaらの方 (Immunology, 164:2644-9, 2000) で測定した。以下の表に示すこと

くTRX群は肺局所のIFN- γ の発現がIL-2/IL-18群に比べ有意に($p=0.019933$)抑制された。

IFN- γ (pg/ml)の濃度

コントロール群	IL-2 群	IL-18 群	IL-2/IL-18 群	TRX 群
754.6 \pm 112.8	706.6 \pm 123.0	833.6 \pm 243.8	1521.4 \pm 459.9	1087.7 \pm 244.4

【0057】実施例5 TRXによるプレオマイシン肺炎の抑制

8週令雌のC57BL/6マウス(体重約20g)を2群(各群n=5)にわけ、プレオマイシン2mgを含む0.2mlのPBSを尾静脈より投与したマウス(プレオマイシン群)、更に40 μ gのヒトTRXを溶解した0.1mlのPBSを0、2、4、6日目に投与しプレオマイシン群と同様の処置をしたマウス(TRX群)を7日目に処死し、マウスの肺の組織を光学顕微鏡で観察した。TRX投与群(Bleomycin+TRX)ではプレオマイシン群(Bleomycin)と比べ肺間質部、血管部への白血球浸潤が抑制された。上段の写真は正常(Normal)のものである。

【0058】製造例1 注射剤

注射剤を下記配合割合で常法に従い調製した。

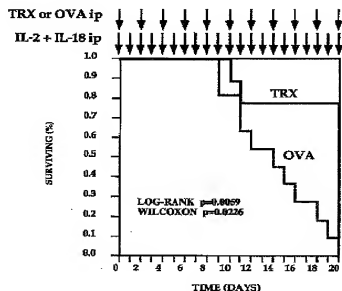
【0059】

リコンビナント ヒト チオレドキシン	0.8mg
注射用蒸留水	適量
1管中	2ml

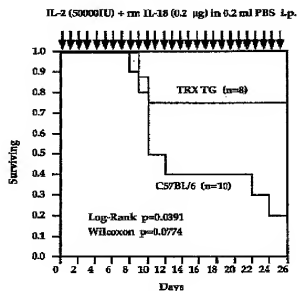
【図面の簡単な説明】

【図1】TRXの間質性肺炎の予防効果を示す図である。縦軸は生存率(SURVIVING)、横軸は日数(TIME(DAYS))を示す。

【図1】



【図3】



※【図2】TRXの間質性肺炎を予防したことを示す写真である。上段の写真はTRX投与群、下段の写真はOVA投与群である。

【図3】TRXトランスジェニックマウスにおいて間質性肺炎を発症しなかったことを示す図である。縦軸は生存率(Surviving)、横軸は日数(Days)を示す。

【図4】TRXトランスジェニックマウスの肺において間質性肺炎を発症しなかったことを示す写真である。上段の写真は26日後に犠牲にしたTRXトランスジェニックマウス(TRX TG Day 26 Sacrificed)の肺、下段の写真は、8日後に死亡したC57BL/6マウス(C57BL/6 Day 8 dead)の肺の写真である。

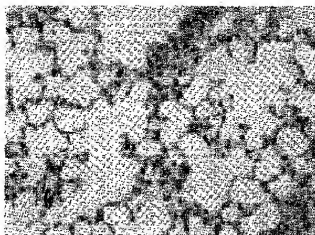
【図5】マウスエアバウチモデルにおける、フローサイトメーターの結果を示す。上段は、生理食塩水(Saline in air pouch)、中段は、LPSで刺激した結果(LPS in air pouch)、下段は、LPS刺激と共にTRXを投与した結果(40 μ g TRX iv LPS in air pouch)を示す。

【図6】TRXがプレオマイシンによる肺間質部、血管部への白血球の浸潤を抑制したことを示す写真である。上段の写真は正常(Normal)のもの、中段の写真はプレオマイシン群(Bleomycin)、下段の写真はTRX投与群(Bleomycin+TRX)のものである。

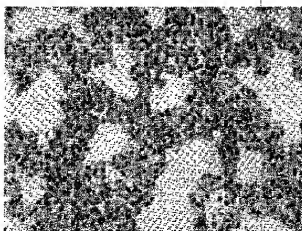
※30

【図2】

TRX
day 20

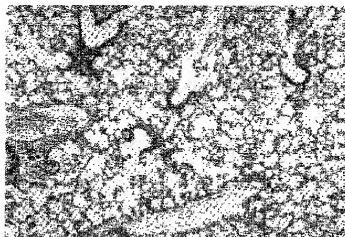


OVA
day 19

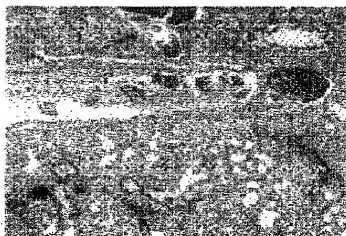


【図4】

TRX TG
Day 26 Sacrificed

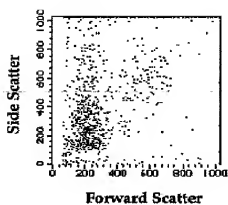


C57BL/6
Day 8 dead

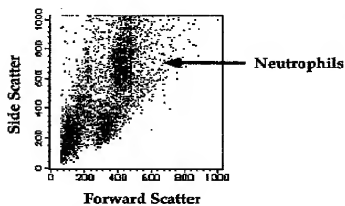
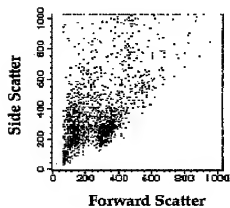


【図5】

Saline in air pouch

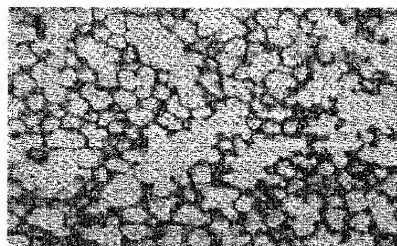


LPS in air pouch

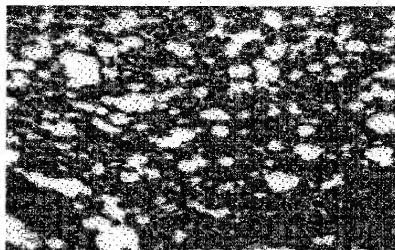
40 μ g TRX iv
LPS in air pouch

【図6】

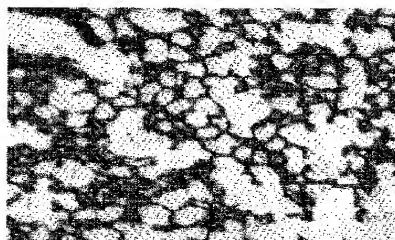
Normal



Bleomycin



Bleomycin
+ TRX



フロントページの続き

(51)Int.Cl.⁷

識別記号

F I

キーワード(参考)

A 6 1 P 29/00

1 0 1

A 6 1 P 43/00

1 1 1

43/00

1 1 1

A 6 1 K 37/02

F ターム(参考) 4C084 AA02 BA02 BA44 CA03 CA05

CA18 CA36 DA58 DA59 NA14

ZA361 ZA591 ZA811 ZB151

ZC311 ZC412